UNIVERSIDADE DO RECIFE

INSTITUTO DE MICOLOGIA

PUBLICAÇÃO N.º 290

ONICOMICOSES E **FONSECAEA PEDROSOI** Negroni var. **CLADOSPORIOIDES** Carrion

Luiza de Araujo Paula

RECIFE — BRASIL

1960

UNIVERSIDADE DO RECIFE

I N S T I T U T O D E M I C O L O G I A

PROF.DR. JOÃO ALFREDO GONÇALVES DA COSTA LIMA
Magnífico Reitor da Universidade

PROF.DR. J.SORIANO DE SOUSA NETO
Vice-Reitor da Univ.

DR. NILDO CARNEIRO LEÃO
Secretário Geral da Univ.

PROF. A. CHAVES BATISTA
Diretor-Pesq.

PESSOAL CIENTIFICO

Dr. Heraldo da Silva Maia - Pesq.
Dr. José Américo de Lima - Pesq.Assist.
Dr. José Rego Vieira - Médico Atend.
Drª Semíramis Oliveira - Pesq.Assist.
Dr. Sylvio T.C.Campos - Pesq.Honor.
Dr. Fernando B. Leal - Assist.Pesq.
Dr. Waldir Bandeira da Silva - Histopat.
Drª Ruth Garnier de Sousa - Biot.
Dr. José Ulysses Correia - Zimol.
Dr. José Oliveira da Silva - Chefe Laborat.
Generosa Emília Pontual Peres - Aux.Pesq.
Maria Dulcinea Cavalcanti Guedes - Tecn.Cult.
José Luiz Bezerra - Aj.Micol.
Ac. Mauro Wanderley Siqueira - Aux.Biol.
Dr. Clísthenes T.Vasconcelos - Assist.Micol.
Lauro Xavier Filho - Prepar.Micol.

UNIVERSIDADE DO RECIFE

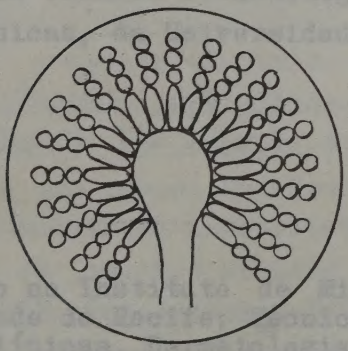
INSTITUTO DE MICOLOGIA

Publicação nº 290

With the Compliments
of Chaves Batista

ONICOMICOSES E FONSECAEA PEDROSOI Negroni var. CLADOSPORIOIDES Carrion

Luiza de Araujo Paula



- 1 9 6 0 -

UNIVERSIDADE DO RECIFE

I N S T I T U T O D E M I C O L O G I A

Publicação nº 290

ONICOMICOSES E FONSECAEA PEDROSOI Negroni var. CLADOSPORIOIDES Carrion

Luiza de Araujo Paula (+)

O presente trabalho tem por finalidade elucidar a etiologia de alguns casos de paraoniquia, da Clínica Dermatológica, do Hospital das Clínicas, da Universidade da Bahia.

(+) Estagiário no Instituto de Micologia, da Universidade do Recife; Técnico do Hospital das Clínicas, Dermatologia, da Universidade da Bahia; Assistente-Técnico da Fundação "Gonçalo Moniz", da Bahia.

Os pacientes foram submetidos a raspagem das áreas ungueais afetadas, empregando-se instrumental esterilizado e sob condições ascéticas, sendo o produto dessa raspagem implantado em Sabouraud-dextrose-agar, contido em tubos de ensaio. Aos 3-4 d., tinham-se desenvolvido cultivos idênticos, em todos os tubos de implantação. Assegurada a obtenção de culturas puras, com o repique para placas de Petri, retornamos os cultivos para tubos e os trouxemos ao Instituto de Micologia, da Universidade do Recife, onde, como estagiária, os estudámos. As características macro e microscópicas dessas culturas as apresentaremos logo mais.

MATERIAL E METODOS

O material constante dêste estudo, escamas ungueais, foi proveniente de lesões paraoniquiais típicas, de 2 pacientes escolhidos, mediante raspagem, com bisturi. Uma porção dêsse material destinâmo-la à implantação sôbre meio de cultura, ao passo que outra parte a clarificamos com KOH, a 10%, para um exame direto, sôbre montagem entre lâmina e lamínula. Constatamos, então, a presença de

micélio septado, subhialino, e escassos conídios, que lembrariam um fungo do gênero Cladosporium.

Com os nossos cultivos puros, no IMUR, seguimos os métodos clássicos de pesquisa micológica, para a análise taxonômica do fungo isolado, e referentes ao estudo do comportamento cultural, em diferentes substratos, apreciando a influência do meio sôbre a morfologia das colônias e aspectos dos órgãos de frutificação. Fizemos, assim, cultivos, em "spot mat", sôbre Sabouraud-dextrose-agar, batata-dextrose-agar e Czapek-agar. De todos êsses cultivos, realizamos sucessivas montagens, para observação, ao microscópio, e reconhecemos, dessa fórma, pela peculiaridade dos caracteres morfológicos, que estávamos diante de um Fonsecaea.

DESCRIÇÃO DE "COLÔNIAS GIGANTE" E DAS ESTRUTURAS MICROSCOPICAS

Sôbre Sabouraud-dextrose-agar, aos 12 dias de cultivo e à temperatura ambiente (26-28º), as colônias atingem tôda a área cultivável das placas de Petri, apresentando-se planas, circulares, feltrosas, de centro

cinza-escuro e micélio aéreo cinza-claro, formando raios ou faixas radiantes, até às margens; exsudato e odor ausentes; reverso negro. O micélio é oliváceo-claro, depois marron-escuro, de hifas septadas, constrictas ou não, tendo células de 26-31 x 5-9 u. Fórma Cladosporium: Da trama do micélio erguem-se conidióforos marron-oliváceos, simples, septados, erectos, lisos ou rugosos, de 78-200 x 2-3 u. Conídios 0-1 septados, fusoides ou subglobosos, catenulados, com disjuntores entre si, lisos, de 7-10 x 3-4 u; frequentemente, as catênulas de conídios mostram-se ramificadas, mas de origem basípeta. Fórma Ramularia (Acrotheca): Conidióforos simples, oliváceos a marron-escuros, de 52-72 x 4-5 u, apresentando conídios globosos a piriformes, marron-escuros, acropleurògenamente desenvolvidos, lisos, de 4-8 x 4-5 u. Fórma Phialophora: Fialóforos erectos, possuindo fiálides lageniformes, de ápice truncado, laterais, de 8-13 x 2,5-4 u, que produzem conídios diminutos, de 5-6 x 1-2 u, contínuos, inicialmente hialinos, depois oliváceo-claros. Clamidosporos marron-escuros, intercalares ou laterais, globosos a subglobosos, lisos, de 10-13 x 9-10 u. Sôbre agar-bata-

ta-dextrose, aos 12 dias de cultivo e à temperatura ambiente, as colônias são planas, circulares, feltrosas, de 9 cm de diam.; micélio aéreo bem desenvolvido, de tonalidade cinza-escuro; bordos filamentosos, ascendentes pelas paredes laterais da placa; odor e exsudato ausentes; reverso negro. Sôbre Czapek-agar, nas mesmas condições de cultivo, as colônias diferem das obtidas em Sabouraud-dextrose-agar, apenas pelo aspecto do micélio aéreo, que se apresenta zonado no sentido radial, além de um leve umbonamento. Não há diferenças apreciáveis, do ponto de vista microscópico.

Assim, êsse fungo, desenvolvendo, em comum, as frutificações conidiais dos tipos de Phialophora, de Ramularia (Acrotheca) e de Cladosporium (Hormodendrum) é um legítimo representante do gênero Fonsecaea Negroni e corresponde, pelas proporções micrométricas de suas estruturas, à variedade F. pedrosoi Negroni var. cladosporioides Carrion.

Ansel (2), reconhecendo tôdas as três fórmas de frutificação como constitutivas de um biotipo clonal, desprezou o binômio Fonsecaea pedrosoi, para indicar Phialophora verrucosa, que é citado como da autoria de

Medlar, ao invés de Thaxter.

REVISÃO DA LITERATURA

O assinalamento de Fonsecaea constituiu, para nós, um interessante achado, pois, de nossa consulta bibliográfica, não resultou o encontro de alguma referência sôbre a participação dêsse gênero de fungos no ocasionamento de paraoniquia. Por outro lado, verificamos, também, o estado de flutuação do gênero Fonsecaea, na Sistemática, aceito por uns e negado por outros.

Os nossos cultivos apresentam estruturas comuns aos gêneros Phialophora Medlar, ao gênero Cladosporium Link e ao gênero Ramularia Unger, ou, neste último caso, pelo menos, formações pseudo-Ramularia, sendo, indubitàvelmente, um fungo Dematiaceae e situado ao lado dos fungos produtores de cromomicoses, ainda que tenha sido isolado de paraoniquia.

Vários fungos têm sido obtidos de casos de cromomicose, destacando-se, entre outros: Hyalopus onichophilus e H. cordoniformis (4), H. spinosum (16), Scopulariopsis brevicaulis (8 e 1). Dentre os Dematiaceae, en-

tretanto, apenas Hemispora (14) é apontado como assinalado em paraoniquia. O nosso fungo, porém, tem comportamento cultural diverso das espécies dêste último gênero, além das notáveis diferenças microscópicas existentes.

Uma análise da posição sistemática e atual conceituação dos fungos ocasionadores de Cromomicose se faz necessária, dado o estado caótico em que a mesma se acha.

O estudo das cromomicoses iniciou-se em 1911, com o primeiro assinalamento de um fungo de micélio corado, de um paciente de Pedroso.

Em 1923, êsse material foi examinado por Brumpt e descrito como Hormodendrum pedrosoi Brumpt. (1).

Antes de Brumpt.,porém, Medlar, em 1915, aconselhado, por Thaxter, sôbre a orientação que deveria emprestar à descrição do agente de Cromomicose, propôs e descreveu(15) o gênero Phialophora Medlar, tendo, como espécie tipo, P.verrucosa.

Esse gênero comportaria os fungos que tivessem conidióforos em taças e conídios arranjados em cadeias ou em massas mucosas (Etmol.: Phiále - copo; phoréo - levar).O micélio seria de côr escura, de aspecto dema-

tioide; foi muito claramente ilustrado e descrito, na publicação supracitada.

Entre 1915 e 1922, outros casos de menor importância ou de diagnose imprecisa surgiram, como o que Maciel, em seu próprio consenso, denominou de "Pé de madura", e cujo fungo Pinoy achou que seria, provàvelmente, pertencente ao gênero Cladosporium. Infelizmente, porém, do caso de Maciel só restou o material histopatológico, provando, contudo, tratar-se, efetivamente, de Cromomicose (1).

Em 1923, Fonseca e Leão (1), estudando uma amostra de fungo procedente de outro caso de cromomicose, descreveram a existência de um esporóforo em "cajado nodoso", no qual se inseriam os esporos mais ou menos ovoides, de tonalidade escura. Este achado fez com que o fungo em tela fôsse colocado no gênero Acrotheca Fuck., 1869; Hormodendrum pedrosoi Brumpt.,foi posto, então, como sinônimo de Acrotheca pedrosoi (Brumpt.) Fonseca e Leão (3). Montpellier & Catanei, em 1927, descreveram-no como H.algeriensis,apud Conant et al. (12).

Esse mesmo fungo foi estudado pelo japonês Ota, o qual o tratou como uma nova espécie, designada, por êle, como Trichospo-

rium pedrosianum Ota.

No ano seguinte, Langeron, revendo o assunto, considerou o fungo causador de Cromomicose, após uma análise do material de Brumpt., Ota e de Carini, como pertencente à espécie Trichosporium pedrosoi Lang.,ratificando a determinação de Ota, e não como Hormodendrum pedrosoi Brumpt., pelo fato de não ter observado a existência dos disjuntores característicos dêste último gênero. Em 1930 e 1935 foram dados outros nomes ao fungo de cromomicose, apud Conant (loc.cit.):Hormodendrum rossium Meriin e Gomphinaria pedrosoi Dodge.

Em 1935-1936, para os agentes de cromomicose, Moore & Almeida criaram 3 gêneros: Hormodendroides, baseado em Hormodendrum Brumpt., do qual seriam sinônimos - Trichosporium pedrosoi Ota e Acrotheca pedrosoi (Brumpt.) Fonseca & Leão, para compreender as fórmas de Acrotheca e Hormodendrum, encontradas, simultâneamente, no mesmo cultivo; Botrytoides, que, segundo a descrição dos autores (loc.cit.),abrangeria os fungos de arranjo conidial acro-pleurógenos, em "cajado-nodoso" e conídios em fórma de fuso ou cilíndricos, fuscos, correspondendo essa descri-

ção à do gênero Acrotheca Fuckel, pelo que não teria, êsse novo gênero, razão de ser; e Phialoconidiophora Moore & Almeida, reunindo os fungos que apresentassem as fórmas de Acrotheca, Phialophora e Hormodendrum.

Em 1936, Negroni (6) criou o gênero Fonsecaea. Carrion, em seu magnífico trabalho sôbre "Cromoblastomicose" (11), fez uma análise do gênero Fonsecaea Negroni, criado em 1936, porém anterior aos gêneros de Moore & Almeida, dizendo que êle deveria compreender os fungos que apresentassem frutificações conidiais tipo Hormodendrum e Acrotheca, tendo, por conseguinte, primazia sôbre o gênero Hormodendroides Moore & Almeida. O ilustre micólogo verificou que uma espécie de Hormodendrum, isolada na Venezuela, e Phialophora verrucosa Medlar, eram os únicos organismos ocasionadores de Cromomicose, que apresentavam um só tipo de fórma conidial. Para os demais existia uma dominância de uma fórma conidial sôbre duas outras ou de duas dessas fórmas sôbre uma terceira. Excetuando, pois, os gêneros Hormodendrum e Phialophora, êle colocou os demais nomes em sinonímia de Fonsecaea pedrosoi.

Em relação ao gênero Fonsecaea,

ainda Carrion propôs uma representação gráfica, em triângulo, que seria composta pelas três variedades dêsse fungo: nos ápices estariam situados os gêneros Acrotheca, Phialophora e Hormodendrum. Dos 3 gêneros acima, porém, só dois se achavam materialmente representados, ficando a fórma Acrotheca pura, em têrmos hipotéticos.

As variedades propostas por Carrion para a espécie Fonsecaea pedrosoi Negroni foram: F.pedrosoi Negroni var. cladosporioides Carrion, na qual a fórma Cladosporium seria dominante sôbre Acrotheca e Phialophora; F. pedrosoi var. typicus Carrion, na qual a fórma de Phialophora seria dominante, e, finalmente, F.pedrosoi var. communis Carrion, tendo as três fórmas conidiais equilibradas. A despeito das várias controvérsias que têm surgido, o gênero Fonsecaea constitue uma realidade micológica, posto que nenhum outro, à exceção de Phialoconidiophora Moore & Almeida, criado depois daquêle, seria capaz de abranger fungos com essas três fórmas de frutificação conidial.

Temos, ainda, a acrescentar, sôbre a análise taxonômica de Fonsecaea, a atual conceituação dos gêneros isolados - Phialophora,

Hormodendrum e Acrotheca:

Phialophora Medlar não sofreu modificação alguma em sua conceituação original, devendo-se retirar dêle os fungos que apresentem características discrepantes;

O gênero Hormodendrum, que diferiria de Cladosporium Link, por apresentar os esporos não septados, está, agora, em sinonímia dêste último (7);

Acrotheca Fuck. foi um gênero de grande confusão entre os micólogos, porquanto duas descrições do mesmo foram feitas pelo autor, em 1860 e 1869. Em 1860, Fuckl. descreveu-o como um Pirenomiceto e, em 1869, usou o mesmo nome para um Dematiaceae. Saccardo(18) levou em consideração o nome de 1869, por achar deficiente a descrição de 1860, sendo seguido por Clements & Shear e outros. Sòmente em 1951, S.J.Hughes (13), analisando o espécimen - tipo do gênero Acrotheca, sensu accepto a Saccardo, concluiu que ambas as descrições tinham o mesmo material de origem, sendo que os peritécios descritos por Fuckel eram apenas massas estromáticas, das quais se levantam os conidióforos portadores de conídios. Essas características levaram êsse micólogo inglês a concluir que Acrotheca cor-

responderia ao gênero Ramularia Unger.

Dêsse modo, o uso dos nomes Hormodendrum e Acrotheca, em nosso estudo, foi feito para tornar mais clara a compreensão do assunto e o evoluir do conhecimento sôbre Fonsecaea, no curso dos anos.

Calero preferiu o nome de Fonsecaea pedrosoi ao estudar a ação, "in vitro", das sulfas, sôbre as amostras dêsse fungo, que isolara no Istmo de Panamá (9), preferência essa mantida depois, quando publicou um caso de cromomicose de aspecto eczematoide, associado com lesão verrucosa (10). Binford, em U.S.A. (5), discutindo a Sistemática do agente de cromomicose, segue a Carrion, aceitando Fonsecaea pedrosoi. Powell (17), investigando 21 doentes de cromomicose, em Queensland, estudou 17 amostras de Fonsecaea, distribuidas em duas variedades. Dos últimos trabalhos sôbre o asunto, destaca-se o de Velutini, Borelli & Abadia (20), que descreve um caso de cromomicose de lesão única lombar, sob o taxon de Fonsecaea pedrosoi Negroni.

Como salientamos a princípio, o fungo que isolamos, na Bahia, apresenta as fórmas conidiais de Cladosporium (Hormodendrum), de Phialophora e de Ramularia (Acrotheca), cons-

tituindo-se, portanto, como um representante do Fonsecaea Negroni. Pela predominância observada da fórma cladospórica sôbre as demais, o reconhecemos como uma variedade de Fonsecaea, ou seja F.pedrosoi Negroni var. cladosporioides Carrion. O dimensionamento de suas estruturas esporológicas, do micélio e de clamidosporos e sua ulterior comparação feita com a descrição de Phialoconidiophora guggenheimia Moore & Almeida, espécie tornada sinônima de F. pedrosoi var. cladosporioides, por Carrion, assim como pela análise de seus caracteres macroscópicos, revelam que o nosso fungo corresponde a essa variedade, destacando-se como valiosa a posição dêsse gênero Fonsecaea, recentemente, também, aceito por Margarita Silva (19), Figs. 1 e 2.

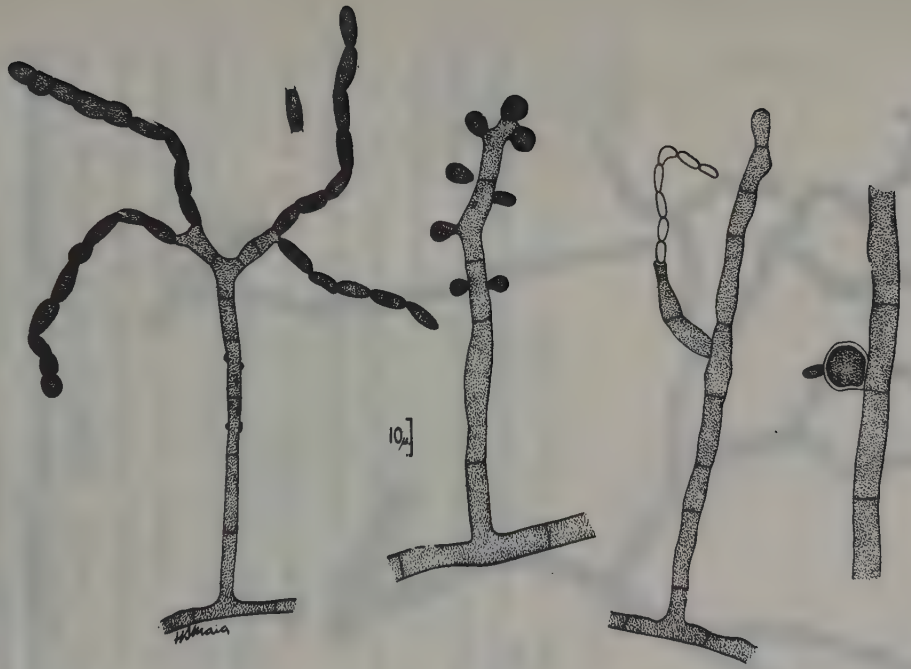


Fig. 1

FONSECAEA PEDROSOI Negroni var. CLADOSPORIOIDES Carrion

Frutificações obtidas sôbre batata-dextrose-agar, aos 12 d.

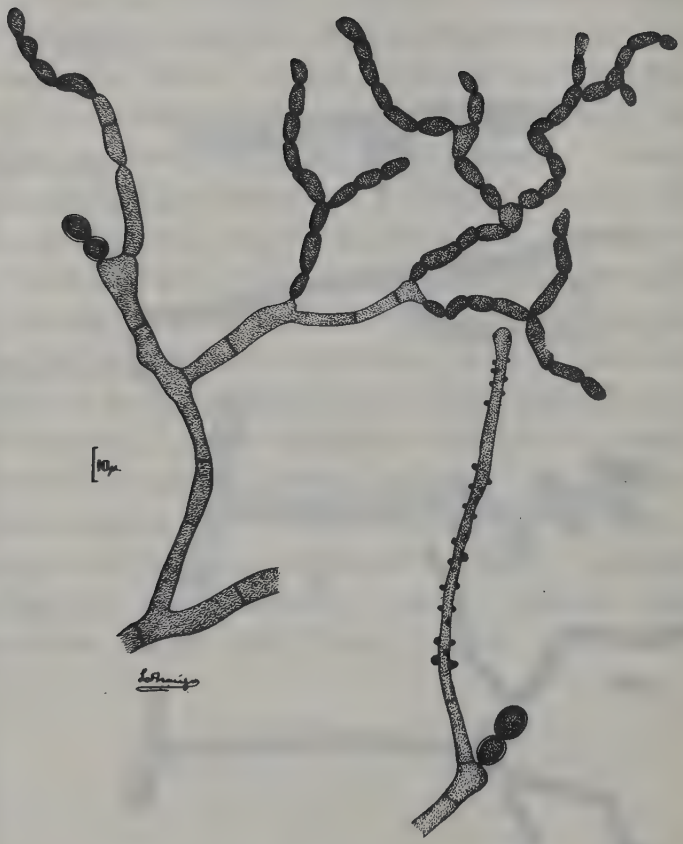


Fig. 2

FONSECAEA PEDROSOI Negroni var. CLADOSPORIOIDES Carrion

Frutificações desenvolvidas sôbre batata-dextrose-agar, aos 6 d., cultivo em lâmina.

ABSTRACT

This paper deals with the finding of *Fonsecaea pedrosoi* Negroni var. *cladosporioides* Carrion in two cases of onychomycosis (paraonichyae).

Apparently is the first time that a fungus of the chromomycosis series is studied in relation with onychomycosis.

The generic value of *Fonsecaea* Negroni is accepted as well defined for the coexistence in the same clonal colonie of three distinct sporologic features: *Phialophora* Medlar, *Cladosporium* Link (*Hormodendrum*) e *Ramularia* Unger (*Acrotheca*).

A general discussion about the representative mycological significance of the genus *Fonsecaea* is also made.

ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit handelt ueber den Fund von Fonsecaea pedrosoi Negroni var. cladosporioides Carrion in zwei Faellen von onychomycosis (paraonichyae).

Scheinbar ist es das erste mal dass ein Pilz de chromomycosis-Serie in Zusammenhang mit onychomycosis studiert wird.

Der genetische Wert von Fonsecaea Negroni wird als genau bestimmt angenommen durch das vorhandensein in derselben Kolonie von drei bestimmten sporologische Merkmalen: Phialophora Medlar, Cladosporium Link (Hormodendrum) und Ramularia Unger (Acrotheca).

Auch wird eine allgemeine Besprechung der repraesentativen Bedeutung der Gattung Fonsecaea gegeben.

AGRADECIMENTO

A autora declina o seu sincero agradecimento ao Prof. Dr. Newton Guimarães, da Cátedra de Dermatologia e Sifilografia, da Faculdade de Medicina da Univ. da Bahia, e ao Dr. Manuel Ferreira, Diretor da Fundação Gonçalo Moniz, também da Bahia, por haverem lhe proporcionado estagiar no Instituto de Micologia, da Universidade do Recife, no período de Agosto a Novembro de 1960.

Ao Prof. A.Chaves Batista, Diretor do Instituto de Micologia, da U.R., e ao Dr. Heraldo da Silva Maia, micólogo dessa Instituição, a quem deve assistência e constante ajuda, hipoteca o seu reconhecimento.

REFERENCIAS

1 - Almeida, F., in Micologia Médica, pp.579 -604, 1939, Cia.Melhoramentos de S. Paulo.

2 - Ansel, M., in Mycoses et Champignons Parasites de L'homme, pp.238-249, 1947, G. Doin & Cie. Edit.

3 - Azulay, R.,in Cromoblastomicose - Tese para o concurso de Livre Docência da Cadeira de Dermatologia e Sifilografia, da Faculdade Fluminense de Medicina, pp.31-36, 1944, Ed. A Manhã, Rio de Janeiro.

4 - Barbosa, S.A.F., in List and keys for the species of the genus "Hyalopus", obtained from the man, pp.28-32, 1942,Impr. Ind. Recife.

5 - Binford,C.H., Hess,G., S.Emmons,C.W., in Chromoblastomycosis-Report of a case from Continental United States and discussion of the classification of the causative fungus. Arch.Derm.Syph.,Chicago,XLIX, 6,

pp. 398-402, 1944.

6 - Bon, in Botanic Zeit, pp.286, 1953,conf. Syll.Fung., IV: 310, 1886.

7 - G.C.Ainsworth and Pisby,in Dictionary of the fungi, 4ª ed., pp.166, 1954, The Comm.Myc.Inst.

8 - Cairn, R.J., Close,H.G.,in Brit.J.Derm., 67, 7, pp. 265, 1955.

9 - Calero, C., Cromoblastomycosis in Panamá, Report of a new case and new clinical form, in Arch.Derm.Syph., Chicago, LVII, 2, pp. 266-271, 1948.

10 - Calero, C., in Cromoblastomycosis: "Acción in vitro de las sulfas sobre tres razas fungosas encontradas en el Istmo de Panamá", in Rev.Inst.Salubr. Enferm. Trop., VII, 2, pp.119-123, 1947 (T.D.B. XIV, 269).

11 - Carrion, A.L., Chromoblastomicosis, in Mycologia XXXIV (1): 425-439, 1942.

12 - Conant, N.F. et al., in Manual of Clinical Mycology, ed. 2nd., pp. 272 - 282, 1954, W.B.Saunders, Co., Phil. & Lond.

13 - Hughes, S.J., Studies on Microfungi, V: Acrotheca, 6d. net, 1951 (Mycological papers, nº 38), in The Comm.Myc.Inst.

14 - Lacaz, C.S., in Manual de Micologia Médica, 1ª ed., pp.144, 1953. Ed.Fac. Med. Sorocaba, Pontifícia Univ. Católica de S. Paulo.

15 - Medlar, M.E., in A new fungus Phialophora verrucosa, pathogenic for man. Micologia, VII: 200-203, 1915.

16 - Negroni, C.R., in Soc. Biol. Argentina, 113: 478-480, 1933.

17 - Powell, R.E., A survey of chromoblastomycosis in Queensland, in Aust.J. Derm., 1, 4, pp. 214-222, 1952.

18 - Saccardo, in Syll.Fung., Hyphomycetes, IV: 276, 1886.

19 - Silva, Margarita - Growth characteristics of the fungi of chromoblastomycosis, in Ann. New York Acad. Sci. 89, (1): 17-29, 1960.

20 - Velutini, L.A. & D.Borelli & J. Abadia, Un caso de cromomicosis del tronco por Fonsecaea pedrosoi, in Dermat. Venezolana, 1(1): 35-107, 1957.

j s c/. ..
Processo Multilith
IMUR, 17.11.1960

DIVISÃO DE DOCUMENTAÇÃO CIENTIFICA

Chefe - Dr. Fernando B.Leal

Técnicos Auxiliares

Técnicos Auxiliares

Alexandre Barza
Joaquim Silvio Caldas
Lisete da Silva Paiva
Manoel Fernando P.Pereira
José Uriel de H.Cavalcanti
Luis Breda Costa
Sírio José Braz Cançado
Pedro Estrada Trilla
Heleno da Silva
Aluísio Nascimento Braga
Carmela Maria L.Cavalcanti

Edit. pela Divisão de Documentação Científica
do IMUR